

логических образцов патогенный биотип *Fusobacterium necrophorum subsp. necrophorum*. На данную тест-систему, прошедшую государственные испытания, были получены нормативные документы: «Инструкция по применению тест-системы для выявления *Fusobacterium*

## SUMMARY

**The characteristic of the developed test - system for revealing *Fusobacterium necrophorum subsp. necrophorum* by a method polymerase chain reaction (PCR) with the help nested primers.**

## Литература

1. Nicholson L.A. Phylogenetic relationship of *Fusobacterium necrophorum* A, AB, and B biotypes based upon 16S rRNA gene sequence analysis/ L.A. Nicholson, C.J. Moppow, L.A. Corner et al.// Int. J. Syst. Bacteriol. – 1994. – Vol. 44. – № 2. – P. 315–319.
2. Самоловов А.А. *Fusobacterium necrophorum*: морфологические, биологические свойства, классификация/ А.А. Самоловов // Научное обеспечение ветеринарных проблем в животноводстве: Сб. науч. тр./РАСХН. Сиб. отд.-ие. ИЭВ-СиДВ. – Новосибирск, 2000. – С. 399–406.
3. Соломаха О.И. Некоторые морфологические особенности *Fusobacterium necrophorum*/ О.И. Соломаха, Л.В. Кириллов, И.Б. Павлова// Аграрная Россия. – 2000. – № 3. – С. 59–61.
4. Методические указания по лабораторной диагностике некробактериоза. (Утвер. ГУВ Юскагропрома СССР 1 июня 1987 г.). – М. – 1987.
5. Resenchuk S.M. Alignment service: creation and processing of alignments of sequences of unlimited length/ S.M. Resenchuk, V.M. Blinov // Comput. Appl. Biosci. – 1995. – № 11. – P. 7–11.
6. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Д. // Молекулярное клонирование. – 1984. – С. 205–240.
7. Maxam F.M., Gilbert W. In: Methods in Enzymology. – 1980. – Vol. 65. – Part. I. – P. 499–550.
8. Семенихин В.И., М.А. Филипенко, Н.В. Некрасова, Е.А. Храпов, А.А. Самоловов. Генотипирование патогенного биотипа АВ *Fusobacterium necrophorum subsp. necrophorum*/ В.И. Семенихин, М.А. Филипенко, Н.В. Некрасова, Е.А. Храпов, А.А. Самоловов. // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. – 2003. – № 1. – С. 86–90.
9. Семенихин В.И. Транспозоны в передаче патогенных свойств *Fusobacterium necrophorum subsp. necrophorum* биотипа АВ/ А.С. Донченко, В.М. Блинов, Д.В. Сараев, А.А. Самоловов, С.В. Лопатин // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. – 2003. – № 4. – С. 84–87.

УДК: 619:616-091:615.9:599.32

**Е.В. Семеряк, Ю.М. Гичев**

(ФГУ ВПО «Омский государственный аграрный университет» факультет ветеринарной медицины)

## ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ КРЫС ПРИ ОСТРОЙ И ХРОНИЧЕСКОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ИВЕРТИНОМ

### Введение

В практике регистрировались случаи отравления животных разных видов препаратами ивермектина, но комплексная дифференциальная диагностика затруднена, так как морфологические исследования при данном токсикозе животных не проводились. В связи с ограниченным количеством сведений о структурных изменениях внутренних органов животных при применении ивермектина, проведение патоморфологических, гистологических и морфометрических исследований на лабораторных крысах при острой и хронической интоксикации ивертином является актуальным.

Ивертин (Ivertinum) – противопара-

зитарный препарат, содержащий в качестве действующего вещества ивермектин. Ивермектин – первый синтезированный авермектин, который в структурном отношении представляет собой смесь 22, 23-дигидроавермектинов В1а и В1в, и обладает выраженным действием на паразитических нематод, членистоногих и их личинок.

Цель работы – выявить характер и степень выраженности морфологических изменений во внутренних органах лабораторных крыс при острой и хронической интоксикации ивертином.

### Материалы и методы исследования

Патоморфологические исследования на теплокровных животных проводили на базе кафедры патологической анатомии,

вскрытия и судебной экспертизы и кафедр внутренних незаразных болезней, фармакологии и токсикологии факультета ветеринарной медицины Омского государственного аграрного университета. Объектом исследования были беспородные лабораторные крысы массой 180,0-220,0 подобранные по методу аналогов, контролем служили интактные животные. Все манипуляции с лабораторными животными проводили с соблюдением международных рекомендаций Европейской конвенции по защите прав позвоночных животных, используемых при экспериментальных исследованиях (1997 г.).

Для изучения острой и хронической интоксикации ивертином было сформировано пять групп, одна из которых (первая) являлась контрольной. При изучении острой интоксикации крысам второй группы однократно внутрижелудочно вводили ивертин в дозе 200 мг/кг. Гибель животных учитывали в течение 14 суток. Для исследования хронической интоксикации крысам третьей группы ежедневно внутрь вводили ивертин в дозе 0,1 мг на кг массы тела, крысам четвертой группы - 1 мг на кг массы тела, а животным пятой группы - 20 мг на кг массы тела. Через 21 сутки проводили вскрытие лабораторных животных и взятие материала для гистологических исследований. Материал для исследований фиксировали в 2% растворе формальдегида и жидкости Карнуа. Срезы получали с парафиновых блоков.

Для изучения общей гистоморфологической картины срезы внутренних органов окрашивали гематоксилином Ганзена и эозином, а также по Ван Гизону. Нуклеиновые кислоты (ДНК и РНК) выявляли галлоцианин-хромовыми квасцами по Эйнарсону. Общий белок определяли сулема-бромфеноловым синим по Пирсу [6]. Кислые гликозаминогликаны (КГАГ) окрашивали альциановым синим по Сиддигу с докрасиванием ядер гематоксилином Ганзена. Гликоген и гликопротеиды выявляли ШИК-реакцией по методу Шабдаша. Соединения железа окисной формы, содержащиеся в гемосидерине и соединениях, связанных с белком, выявляли реакцией на Берлинскую лазурь по Перлсу [4].

Измерение гистологических структур проводили с помощью окулярного винтового микрометра МОВ-1-15х, проводили математическую обработку полученных данных [1]. Вероятность достоверности различий сравниваемых средних величин

определяли путем использования t-критерия Стьюдента.

#### Результаты исследования

Гибель животных при острой интоксикации ивертином наступала в течение четырех суток. У крыс, павших в первые сутки наблюдали острое расширение желудка, катаральный и/или геморрагический энтерит, катаральный колит, острую застойную гиперемию печени с наличием анемичных участков, острую застойную гиперемию почек, миокарда, головного мозга, увеличение и полнокровие селезенки, а также геморрагический отек легких. У животных, павших через двое суток, отмечали острую застойную гиперемию паренхиматозных органов, головного мозга, острое расширение желудка, серозно-катаральный энтероколит.

При гистологическом исследовании печени крыс установлено, что сосуды триад, центральные вены и межбалочные синусоидные капилляры расширены и заполнены эритроцитарной массой. Балочная структура печеночной дольки сохранена в центральной и средней зоне. Гепатоциты сжаты, полиморфны, их цитоплазма однородно розовая, ядра крупные, округлые. Наблюдалось значительное снижение концентрации гликогена в гепатоцитах, содержание основного белка соответствовало контролю.

В почках отмечали расширение кровеносных сосудов, кровоизлияния в корковом и мозговом веществе. Эпителий дистальных и проксимальных извитых канальцев набухший, часто с разрушенными клеточными оболочками. Наблюдалось также выход в просвет канальцев элементов цитоплазмы и ядер, частичный или полный некроз эпителия извитых канальцев. Изменения наблюдали и в структуре сосудистых клубочков: набухание базальной мембраны капсулы, скопление гомогенной бесцветной массы в полости капсулы клубочка, отсутствие ядер подоцитов сосудистых петлей в некоторых клубочках. Подобные изменения типичны для быстро прогрессирующего гломерулонефрита.

Селезенка крыс при острой интоксикации ивертином отличалась расширенными трабекулярными венами и артериями, хорошо выраженной стромой органа. В красной пульпе имелись малочисленные скопления гранул гемосидерина. Фолликулы белой пульпы имели характерное строение.

В сердце наблюдалась интенсивная ги-

перемия подэпикардиальных сосудов. Отмечали также скопление эритроцитов между кардиомиоцитами, набухание, потерю поперечной исчерченности, разрывы мышечных волокон.

В легких отмечали расширение кровеносных сосудов, выход эритроцитов в просвет альвеол и обильную инфильтрацию межальвеолярной и междольковой соединительной ткани эритроцитами, лимфоцитами, тучными клетками.

В головном мозгу установлено кровенаполнение сосудов мягкой мозговой оболочки и коры, периваскулярный отек, очаговая инфильтрация лимфоидными клетками.

При хронической интоксикации ивертином у крыс третьей группы наблюдали метеоризм желудка, тонких и толстых кишок, увеличение пейеровых бляшек, застойную гиперемию и белковую дистрофию миокарда, застойную гиперемию и очаговую дистрофию печени, дистрофию почек, полнокровие и увеличение селезенки. Застойная гиперемия паренхиматозных органов сильнее была выражена у крыс четвертой группы. У животных пятой группы макроскопически отмечены признаки токсической дистрофии печени. Окрас почек крыс опытных групп варьировал от серо-коричневого до темно-коричневого. У некоторых особей наблюдали темно-коричневые поперечные полосы на поверхности почек. Капсула почек снималась легко, на разрезе отмечали красную радиальную исчерченность, у части животных граница между корковым и мозговым веществом была выражена слабо.

Макроскопические изменения сердца крыс третьей, четвертой и пятой групп были однотипны: в разной степени выраженная дистрофия миокарда, расширение правого желудочка, застойная гиперемия подэпикардиальных сосудов.

Селезенка крыс третьей и четвертой группы темно-вишневая, полнокровная, края закруглены, размеры в пределах или чуть больше нормы. Селезенка крыс пятой группы отличалась более крупными размерами.

Головной мозг крыс третьей и пятой групп бледный, сосуды мягкой мозговой оболочки слабо наполнены кровью. У крыс четвертой группы отмечали гиперемию сосудов мягкой мозговой оболочки.

При исследовании органов репродукции у самок третьей группы отмечали гнойно-катаральный эндометрит, кисты

яичников. В матке крыс пятой группы отмечали маточное кровоизлияние у беременных самок, наличие мертвых плодов, фибринозный плацентит, катаральный, гнойно-катаральный эндометрит одного или обоих рогов матки, замкнутые полости (кисты) разной величины в слизистом слое матки, а также кисты яичников. У самцов крыс третьей и пятой групп обнаруживали уретральные пробки, у некоторых животных пятой группы также отмечали слизистые сгустки и пробки в мочевом пузыре.

При окраске гематоксилином и эозином в центральной части долек печени третьей и пятой группы наблюдалось набухание гепатоцитов и оксифильная зернистость цитоплазмы. В таких участках дольки отмечена повышенная концентрация общего белка. В гепатоцитах периферической части долек отмечена вакуолизация цитоплазмы и снижение концентрации белка, гипохромность ядер, снижение в них содержания ДНК и РНК. У крыс третьей, четвертой и пятой групп отмечено снижение содержания гликогена в гепатоцитах, которые в печеночной дольке расположены мозаично. При цитометрии гепатоцитов крыс третьей группы отмечено достоверное увеличение объема ядер и цитоплазмы по сравнению с контролем, у животных пятой группы - незначительное увеличение объема ядер при значительном уменьшении объема цитоплазмы гепатоцитов. Содержание ДНК, РНК в большинстве гепатоцитов крыс опытных групп повышено, ядра гиперхромные с 2-4 ядрышками, хроматин расположен по площади ядра и ближе к карิโอлеме. В печени крыс четвертой группы наименее были выражены дистрофические изменения в гепатоцитах, но сильнее, чем в третьей и пятой группах, отмечены признаки застойной гиперемии. Вены триад, центральные вены печеночных долек, синусоидные капилляры кровенаполнены, в центральной зоне долек печени кровоизлияния. Печеночные балки отделены друг от друга, что создает вид «сетчатой» структуры дольки и печени в целом. При цитометрии отмечали достоверное снижение объема гепатоцитов. У крыс четвертой группы зернистость цитоплазмы гепатоцитов выражена слабее, чем у крыс третьей и пятой групп, в отдельных гепатоцитах наблюдали также вакуолизацию цитоплазмы. Высокую концентрацию общего белка отмечали в гепатоцитах четвертой группы. В печени

крыс пятой группы отмечали также зоны некроза печеночных клеток разной величины. Увеличение показателя ядерно-цитоплазматического отношения гепатоцитов возрастало во всех опытных группах при длительном поступлении ивермектина в организм крыс, но наибольшими были у животных четвертой группы.

При гистологическом исследовании почек животных третьей, четвертой и пятой групп наблюдалось набухание нефроцитов извитых канальцев, зернистость их цитоплазмы. Отмечали нарушение целостности клеточных оболочек и наличие в просвете канальцев фрагментов разрушенных клеток и ядер, что значительно было выражено в почках крыс третьей группы. У животных этой группы отмечались участки инфильтрации интерстиция мононуклеарами. Наблюдали набухание базальной мембраны капсулы сосудистого клубочка, уменьшение количества ядер подоцитов. Степень изменений сосудистого клубочка и капсулы была сильнее выражена в почках крыс четвертой группы. При гистохимическом исследовании КГАГ, наблюдалось их скопление в полости капсулы измененных сосудистых клубочков и наличие в цитоплазме эпителиоцитов прямых канальцев. В проксимальных извитых канальцах почек опытных животных наблюдали частичное отсутствие щеточной каемки (ШИК-реакция).

В селезенке крыс третьей группы отмечено отложение очень большого количества гранул гемосидерина, застойная гиперемия. У животных четвертой группы также отмечали гемосидероз селезенки, выраженный в меньшей степени, чем у крыс третьей группы. У крыс пятой группы гемосидероз селезенки не наблюдали.

Во всех опытных группах, при длительном поступлении ивертина в организм, в миокарде отмечали умеренное расширение коронарных и подэпикардиальных сосудов, участки с признаками белковой дистрофии мышечных волокон, отсутствие в них поперечной исчерченности. Гиперемия миокарда значительно выражена у животных пятой группы.

В легких отмечали умеренное расширение кровеносных сосудов.

В головном мозгу опытных крыс отмечали умеренное кровенаполнение сосудов мягкой мозговой оболочки, периваскулярный и периваскулярный отеки.

При гистологическом исследовании матки наблюдали расширение кровеносных сосудов подслизистого и мышечного

слоя, расширение желез эндометрия, скопление в них КГАГ, нарушение целостности поверхностного эпителия эндометрия, а также замкнутые полости (кисты) разного размера в эндометрии. В полости патологически измененных маток отмечали скопление экссудата, в составе которого выявлялись кислые и сульфатированные ГАГ, лимфоциты, большое количество сегментоядерных нейтрофилов, а также фрагменты разрушенных ядер и клеточных оболочек поверхностного эпителия эндометрия.

### Заключение

При острой интоксикации лабораторных крыс препаратом ивертин, патологические изменения носили общий характер. Препарат, введенный интрагастрально, в дозе 200 мг/кг оказывал нефротоксическое и ангиотоксическое действие, вызывал признаки нарушения гемодинамики. Вследствие этого во внутренних органах отмечали острую гиперемия, мелкие и крупные кровоизлияния на поверхности и в паренхиме органов, отек головного мозга, геморрагический отек легких, а также острый гломерулонефрит. При длительном поступлении ивермектина в организм лабораторных крыс степень выраженности морфологических изменений во внутренних органах не зависела от дозы токсиканта. Установлено, что микродозы ивермектина способствовали развитию гемосидероза селезенки, что является свидетельством гемолиза эритроцитов. Отмечены также признаки белковой и углеводной дистрофии паренхиматозных органов. То есть, при длительном поступлении ивермектина в микродозах и малых дозах у животных развивались структурно-функциональные изменения органов и систем, гемолиз эритроцитов, нарушение гемодинамики.

Таким образом, подобные изменения могут свидетельствовать как о прямом, так и о косвенном негативном влиянии ивермектина на структуры и функцию внутренних органов животных. По литературным данным ивермектин в наибольшем количестве обнаруживался именно в печени, почках и подкожной клетчатке [7]. В эксперименте нами также отмечены выраженные структурные изменения в почках, печени, головном мозге, а также половых органах самок. Обнаруженные патологические состояния внутренних органов белых крыс необходимо учитывать при дифференциальной диагностике пестицидных токсикозов у животных.

## SUMMARY

The character and degree of morphological changes of internal organs of laboratory rats at acute and chronic intoxication of Ivertin was investigated. Morphological studies showed that for chronic intoxication was typical the mixed parenchymatous-fatty degeneration, the renal and myocardial parenchymatous degeneration, disorder of the blood circulation, hemosiderosis of the spleen and pathology of reproductive organs of females. The general disorder of the blood circulation, hemorrhages, acute glomerulonephritis edema of the lungs and cerebrum was typical for acute intoxication.

## Литература

1. Автандилов, Г. Г. Медицинская морфометрия / Г. Г. Автандилов. – М.: Медицина, 1990. – 384 с.
2. Викторов, А. В., Юркиев, В. А. Влияние ивермектина на функциональное состояние макрофагов печени / А. В. Викторов, В. А. Юркиев / Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 2003, том 136, № 12.
3. Клиническая нефрология Т. 2 / Под. Ред. Е. М. Тареева / АМН СССР. – М.: Медицина, 1973. – 345 с.
4. Меркулов, Г. А. Курс патолого-гистологической техники / Г. А. Меркулов. – Л.: Медицина, 1969. – 423 с.
5. Метревели, Т. В. Биохимия животных / Под ред. проф. Н. С. Шевелева. – СПб.: «Лань», 2005. – 296 с.
6. Пирс, Э. Гистохимия. Теоретическая и прикладная / Э. Пирс. – М.: Мир, 1962. – 963 с.
7. Ivermektin, a new broad-spectrum antiparasitic agent / J. C. Chabala, H. Mrozik et al. // J. Med. Chem. 1980. V. 23. P. 1134 – 1136.

УДК: 633.883:578.082

**Д. В. Тарнуев, И. О. Убашеев, К. С. Лоншакова**

(ФГОУ ВПО «Бурятская государственная сельскохозяйственная академия им. В. Р. Филиппова», Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН, г. Улан-Удэ)

## ГАСТРОПРОТЕКТИВНОЕ ДЕЙСТВИЕ «ПОЛИПЛАНТА-К» ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ АЦЕТАТНОЙ ЯЗВЕ ЖЕЛУДКА ПО ОКАБЕ AT AL. У БЕЛЫХ КРЫС

В структуре гастроинтестинальной патологии и животных, и человека язвенная болезнь занимает ведущее место и отнесена к разряду часто встречающихся заболеваний.

Проблема этиологии и патогенеза, профилактики и лечения язвенной болезни желудка, как и всякая другая нерешенная проблема, продолжает привлекать пристальное внимание исследователей.

Интерес к препаратам растительного и минерального происхождения активизируется во всем мире в связи с токсикологическим кризисом, наметившимся в области применения синтетических средств [5, 6].

В настоящей работе дана оценка антиульцерогенного действия фитосредства «полипланта-К» (коланхоэ, подорожник и водяной перец).

### Материал и методы исследований

Эксперименты проводили на белых крысах-самцах с исходной массой  $200,0 \pm 10,0$  г. В каждой группе использовалось по 10 животных. Ацетатную (хроническую) язву желудка по Okabe at al. [12] вызывали у белых крыс под барбиталовым наркозом (60,0 мг/кг, внутривенно).

Формирование язвенного дефекта проводили на серозной оболочке желудка в области между пищеводом и луковицей 12-перстной кишки, стеклянной пипеткой с концевым диаметром 2 мм, содержащей 0,5 мл ледяной уксусной кислоты. В течение 24 часов до воздействия ульцерогенного агента, крысы голодали при свободном их доступе к воде. Исследуемые препараты («полиплант-К», и препарат сравнения плантаглюцид) вводили перорально, ежедневно, начиная через 1 сутки после альтерации и на протяжении всего эксперимента, в оптимальной терапевтической дозе: плантаглюцид – смесь полисахаридов подорожника большого, который оказывает спазмолитическое и противовоспалительное действие, вызывает увеличение слизистых резервов желудка (2,8,9,10) – 300,0 мг/кг. Животным контрольной группы по аналогичной схеме вводили дистиллированную воду в эквивалентном количестве. По истечении 14 и 21 суток после операции животных умерщвляли мгновенной декапитацией под легким эфирным наркозом, проводили наложение лигатуры на пилорический отдел желудка. Как извес-